

Beitrag zur Bedeutung des Vegetativum
beeinflussender Pharmaka
für die Hyaluronidasehemmung

von

GÜNTER SCHLIERF

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Beitrag zur Bedeutung des Vegetativum beeinflussender Pharmaka
für die Hyaluronidasehemmung

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Günter Schlierf
aus
Kaufbeuren



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. K. Kolle

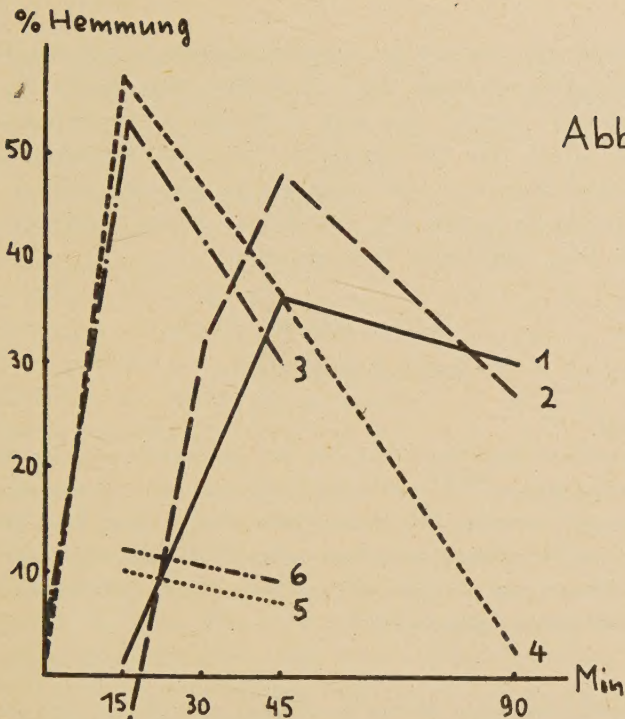
Tag der Mündlichen Prüfung: 9.6.1959

Inhaltsverzeichnis

Problematik	4
Eigene Versuche	6
Statistische Auswertung	30
Diskussion	47
Literaturverzeichnis	49

Problematik

M a t h i e s ¹⁻¹¹ und Mitarbeiter ¹²⁻¹⁹ haben in Rattenversuchen nachweisen können, daß der Wirkungsmechanismus verschiedener hyaluronidaschemmender Substanzen und Behandlungsmethoden (Acetylsalicylsäure ^{1-4,12,13}, Phenylbutazon ^{5,14,15}, Chloraethylbenzmethoxazon ^{6,16,17}, Moorbäder ^{7-11,18,19}) an eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark gebunden ist. Zur Erhärtung dieser Feststellung wurde gefunden, daß Adrenalin und Noradrenalin bei intakten und auch bei adrenaletomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung in gleicher Größenordnung wie unter den geprüften hyaluronidaschemmenden Substanzen hervorrufen. M a t h i e s ²⁰ und S c h e u f e l e ²¹ stellten in diesen Versuchen fest, daß Adrenalin einerseits und Noradrenalin andererseits in gleichen Dosen eine Hyaluronidasehemmung annähernd gleichen Ausmaßes machen. Die Hemmung durch Noradrenalin ist höchstens etwas, jedoch nicht statistisch signifikant stärker als die durch Adrenalin. Die Verhältnisse bei der Hyaluronidasehemmung liegen also nicht so, wie bei anderen Effekten der Katecholamine, wobei oft eine vielfache Dosis des einen notwendig ist, um den Effekt des anderen in gleichem Ausmaß zu erzielen. Geringere Katecholamindosen rufen eine etwas stärkere und vor allem bedeutend frühere Hyaluronidasehemmung hervor. Eine Mindestdosis von zwischen 0,5 μ und 1,0 μ ist jedoch notwendig, um überhaupt eine wesentliche Hyaluronidasehemmung zu erzeugen. Die hier vorliegenden Verhältnisse und gefundenen Werte gehen aus Tabelle 1 und Abbildung 1 hervor. Hierbei zeigte sich durch Vergleiche mit der Pupillenweite, daß die Hyaluronidasehemmung nicht während der primären Katecholaminwirkung, sondern erst in der Gegenregulationsphase eintrat. Aus diesem Grunde könnten auch geringere Katecholamindosen eher zu einer Hyaluronidasehemmung führen als höhere, weil geringere Dosen eher unwirksam sind und die Gegenregulation entsprechend früher eintritt. Es ist jedoch noch nicht eindeutig geklärt, ob eine bestimmte Zeitspanne nach Beginn der Katecholamineinwirkung oder eine Reaktionsfolge, die an das Abgeklungensein der Katecholaminwirkung gebunden ist, für das Auftreten der Hyaluronidasehemmung maßgebend ist.



0' 15' 30' 45' 90'
nach Injektion

1)	6γ	Adrenalin	-	0.5	-	36.3	30.4 %
2)	6γ	Noradrenalin	-	-7.4	32.4	48.2	26.9 %
3)	1γ	Adrenalin	4.6	52.5	-	29.7	-
4)	1γ	Noradrenalin	1.9	57.2	-	35.9	2.2 %
5)	0.5γ	Adrenalin	-	9.8	-	7.0	-
6)	0.5γ	Noradrenalin	-	12.7	-	9.2	-
		Physiol. NaCl	-	2.7	-	-	-
		(Kontrollgruppe)					

- Tabelle 1 -

Hyaluronidasehemmung nach verschiedenen
Dosen Adrenalin und Noradrenalin

Letzteres würde eher für die Hyaluronidasehemmung in der vagalen Gegenregulationsphase sprechen. Falls sich diese Möglichkeit als zutreffend herausstellen sollte, wäre noch zu klären, ob die vagische Einstellung als solche oder die Dynamik der vagischen Gegenregulation auf eine primäre sympathikotone Phase als Katecholaminwirkung die Hyaluronidasehemmung beinhaltet. Die Klärung dieser Fragen ist Gegenstand der hier vorgelegten Untersuchungen.

Eigene Versuche

I. Versuchsgruppe

Fragestellung

Die mit einmaliger Gabe von Adrenalin bei adrenaletomierten Ratten gefundenen Verhältnisse ^{20,21} sollten hier mit einer Adrenalindauerinjektion überprüft werden. Mit dieser Versuchsanordnung kann geklärt werden, ob eine Zeitspanne nach Beginn der Injektion oder eine Zeitspanne nach Beendigung der Adrenalinwirkung für das Auftreten der Hyaluronidasehemmung maßgebend ist.

Methodik

Es wurden männliche weiße Ratten im Gewicht von 150 bis 255 g für die Versuche verwendet. Die Adrenaletomie wurde in Äthernarkose durchgeführt. Die adrenaletomierten Tiere wurden mit Hafermark und Zucker kohlehydratreich ernährt und erhielten zur Aufrechterhaltung des Ionenhaushaltes physiologische NaCl-Lösung als Trinkflüssigkeit. Die Ratten wurden 48 Stunden nach der Adrenaletomie in Versuch genommen, da nach diesem Zeitpunkt kaum eine Regeneration funktionsfähigen Nebennierengewebes anzunehmen ist. Die Hyaluronidaseaktivität wurde an der Ausbreitung einer Farbstoff- bzw. Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor und zu verschiedenen Zeiten während und nach einer Dauerinjektion mit Adrenalin ermittelt. Hierzu wurde die Bauchhaut 48 Stunden vor dem Versuch mit Pilca enthaart. Die reine Farbstoffquaddel wurde mit 0,1 ccm einer 1%igen Verdünnung einer 6%igen Evansblau-Stammlösung streng intracutan gesetzt. Zur Herstellung der Farbstoff+Hyaluronidaselösung wurden in 2 ccm der oben genannten Endverdünnung der Farbstofflösung 150 IE Hyaluronidase (Kinetin) gelöst, so daß bei der intracutanen Injektion von 0,1 ccm 7,5 IE Hyaluronidase zur Wirkung kamen. Ausgewertet wurde die 10

Minuten nach Injektion erreichte Ausbreitung der Farbstoff-Flecken. Diese wurden durch Übertragung der Konturen auf Zelluloidstreifen und anschließende planimetrische Ausmessung bestimmt. Naturgemäß zeigt die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine weit raschere Ausbreitung als die reine Farbstoffquaddel, dagegen weist die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine gewisse Hemmung der Ausbreitung auf, wenn eine hyaluronidasehemmende Substanz appliziert wird. Die Versuche wurden in Narkose mit 30 mg Evipan-Natrium/100 g Tier durchgeführt. Bei mehrstündiger Versuchsdauer waren 20 mg Evipan-Natrium+8,8 mg Luminal-Natrium/100 g Tier zweckmäßig. Ein Einfluß von Barbituraten auf die Aktivität der Hyaluronidase besteht nach Wilhelmi²² nicht, ebenso wenig nach Versuchen von Mathies²³.

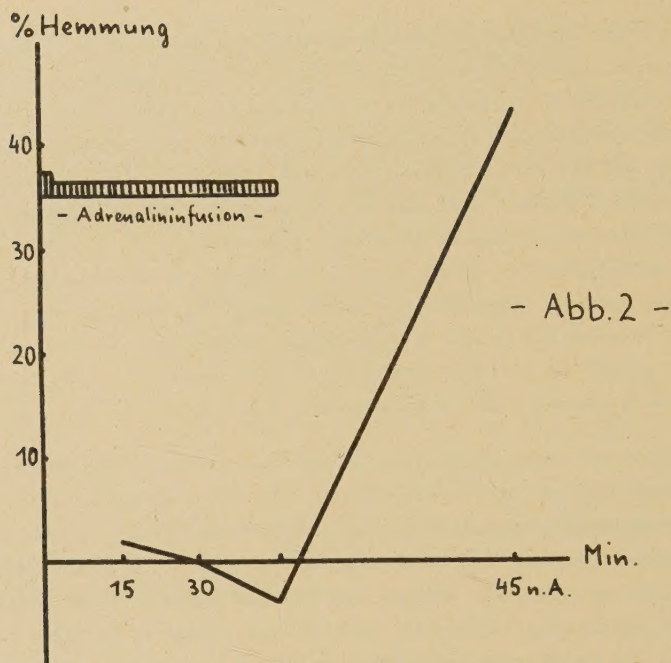
Adrenalin wurde i.v. in die freigelegte Femoralvene injiziert und zwar durch eine mittels eines dünnen Schlauches an eine fixierte Spritze angeschlossene Kanüle. Dadurch war eine Dauerinjektion auch über mehrere Stunden technisch gut möglich. Die jeweilige Anfangsdosis wurde mit 1 μ /Min. (diese Applikation wurde von den Ratten noch gut vertragen) injiziert, dann wurden weiter 0,5 μ /Min. verabfolgt. Die Injektionsflüssigkeit enthielt in 0,05 ml physiologischer Kochsalzlösung 1 μ Adrenalin.

1. Versuchsreihe

Die Adrenalin-Anfangsdosis betrug 1 μ (im Verlauf einer Minute injiziert), anschließend wurden über 45 Minuten 0,5 μ /Min. injiziert. Die Hyaluronidasehemmung wurde 15', 30' und 45' nach Beginn der Injektion sowie 45' nach Beendigung der Injektion bestimmt. Die Ergebnisse zeigen Tabelle 2 und 13 und Abbildung 2.

Besprechung der Ergebnisse

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß die bei einmaliger Injektion von 1 μ Adrenalin bereits nach 15 Minuten vorhandene Hyaluronidasehemmung bei einer anschließenden Weiterinjektion von 0,5 μ /Min. nach 45 Minuten noch nicht vorhanden ist. Um dem möglichen Einwand zu begegnen, daß in dieser Versuchsreihe die Adrenalinapplikation nicht über 45 Minuten hinaus durchgeführt wurde, sei auf die Ergebnisse der 11. Versuchsreihe hingewiesen, in der adrenaletomierten Tieren Adrenalin über 120 Minuten verabfolgt wurde. Zusätzlich wurde aller-



Adrenalektomierte Tiere

Dauer-Adrenalin $1\gamma/100$ gr, dann $1/2\gamma/\text{min.}$

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	15' nach	vor	15' nach	30' Infusionsb.	45' n.Abs.	45' n.Abs.
58	144	145	244	222	218	228	-
66	144	158	260	248	250	267	205
67	145	148	223	252	235	215	191
68	139	130	220	216	243	250	-
Hemmung			2.4	0.3	-3.5	43.0	%

dings das in dieser Versuchsanordnung jedoch wirkungslose Prednison verabfolgt. Deshalb bilden die Ergebnisse der Versuchsreihe 11 eine gewisse Ergänzung und Bestätigung der Befunde dieser Versuchsreihe 1. Selbst wenn man 45 Minuten nach Beginn der Injektion als in der Blutbahn wirksame Substanz 6 μ annehmen will, so müßte nach den erwähnten Versuchen von Mathies²⁰ und Scheufele²¹ nach 45 Minuten bereits eine deutliche Hyaluronidasehemmung sichtbar sein. Die Hyaluronidasehemmung trat jedoch erst zu dem gemessenen Zeitpunkt 45 Minuten nach Beendigung der Injektion in Erscheinung. Dieses Ergebnis zeigt, daß das Auftreten der Hyaluronidasehemmung an die Gegenregulation bzw. zumindest an einen Effekt gebunden ist, der erst nach Aufhören der Adrenalinwirkung wirksam werden kann.

II. Versuchsgruppe

Fragestellung

Es war nunmehr zu klären, ob bereits die vagotone Einstellung als solche oder erst die Gegenregulation auf eine Adrenalinwirkung die Hyaluronidasehemmung bedingt.

Methodik

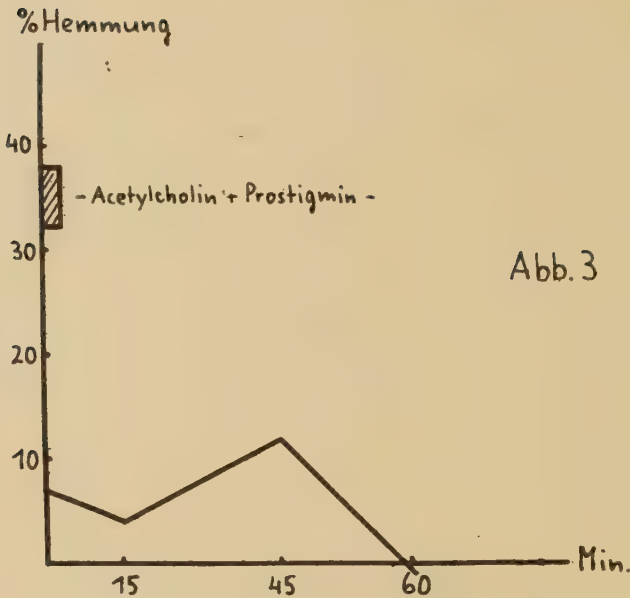
Es wurden ebenfalls adrenaletomierte Ratten in Versuch genommen. Die Methodik war die gleiche wie in der I. Versuchsgruppe. Statt Adrenalin in der Dauerinfusion wurden jedoch 0,2 mg Acetylcholin und als Cholinesterasehemmer 1 μ Prostigmin/100 g Tier in 0,2 ml physiologischer NaCl-Lösung über 4 Minuten intravenös injiziert.

2. Versuchsreihe

Es wurde die Hyaluronidasehemmung 0', 15', 45' und 60' nach Beginn der Acetylcholin+Prostigmin-Injektion bestimmt. Die Ergebnisse zeigen Tabelle 3 und 14 und Abbildung 3.

Besprechung der Ergebnisse

Diese Versuchsreihe zeigt, daß die vagale Einstellung als solche keine Hyaluronidasehemmung ergibt, daß also die Gegenregulation auf eine primäre sympathikotone Phase durch Katecholaminfreisetzung erforderlich ist. Wir legten Wert darauf, daß die Untersuchungen dieser Versuchsreihe an adrenaletomierten Tieren durchgeführt wurden, um vor reaktiven Katecholaminausschüttungen sicher zu sein. Diese Voraussetzungen



Adrenalektomierte Tiere

Acetylcholin 0.2 mg/100 gr und Prostigmin 1 μ /100 gr

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	0' nach	vor	0' nach	15' Injektionsbeginn	45'	60'
22	132	110	211	210	205	183	202
21	120	130	184	186	170	200	186
23	109	105	199	177	195	186	195
19	98	128	216	211	225	200	229
Hemmung			7.4	4.3	11.7	-0.5 %	

wurden z.B. von Marquardt, Meyer und Schumacher nicht beachtet, die am künstlichen Lidödem des intakten Kaninchens eine Ödemhemmung durch Acetylcholin sahen.

III. Versuchsgruppe

Fragestellung

In der I. Versuchsgruppe wurde an adrenaletomierten Tieren nachgewiesen, daß erst nach Abklingen der Adrenalinwirkung die Hyaluronidasehemmung auftritt, um analog den Versuchen von Mathies^{25,26}, Mathies und Jankowski³, Jankowski²⁷ und Scheufele²¹ im Zusammenhang mit den bereits erwähnten Ergebnissen des Ausfalls der Hyaluronidasehemmung bei adrenaletomierten Tieren und des Erhaltenseins der Hemmung bei hypophysektomierten Tieren unter Antirheumatica zeigen zu können, daß der Wirkungsmechanismus der Hyaluronidasehemmung an eine Nebennierenmark-Funktion gebunden ist. Die Versuche der I. Versuchsgruppe sollten zum Vergleich in dieser III. Versuchsgruppe an intakten Ratten wiederholt werden, um die Verhältnisse während der Adrenalin-dauerinjektion zu studieren. Auf die Bestimmung der Hyaluronidasehemmung nach Absetzen der Injektion wurde in dieser Versuchsreihe verzichtet.

Methodik

Die Methodik ist die gleiche wie bei der I. Versuchsgruppe, es wurden lediglich intakte Ratten verwendet.

3. Versuchsreihe

Die Anfangsdosis betrug 1 γ Adrenalin (im Verlauf einer Minute injiziert), anschließend wurden über 45 Minuten 0,5 γ /Min. injiziert. Die Hyaluronidasehemmung wurde 45', 80', 120', 140', 160', 180', 200' und 220' nach Beginn der Adrenalin-Injektion bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 und 15 und Abbildung 4 dargestellt.

4. Versuchsreihe

Zum Vergleich wurde eine Dauerinjektion physiologischer NaCl-Lösung mit jeweils gleicher Menge der Injektionsflüssigkeit über 100 Minuten vorgenommen und die Hyaluronidasehemmung 45', 60', 80' und 100' nach Injektionsbeginn bestimmt. Die Ergebnisse sind auf Tabelle 5 und 16 und Abbildung 5 aufgeführt.

Normaltiere

Dauer-Adrenalin 1 γ /100 gr, dann 1/2 γ /min.

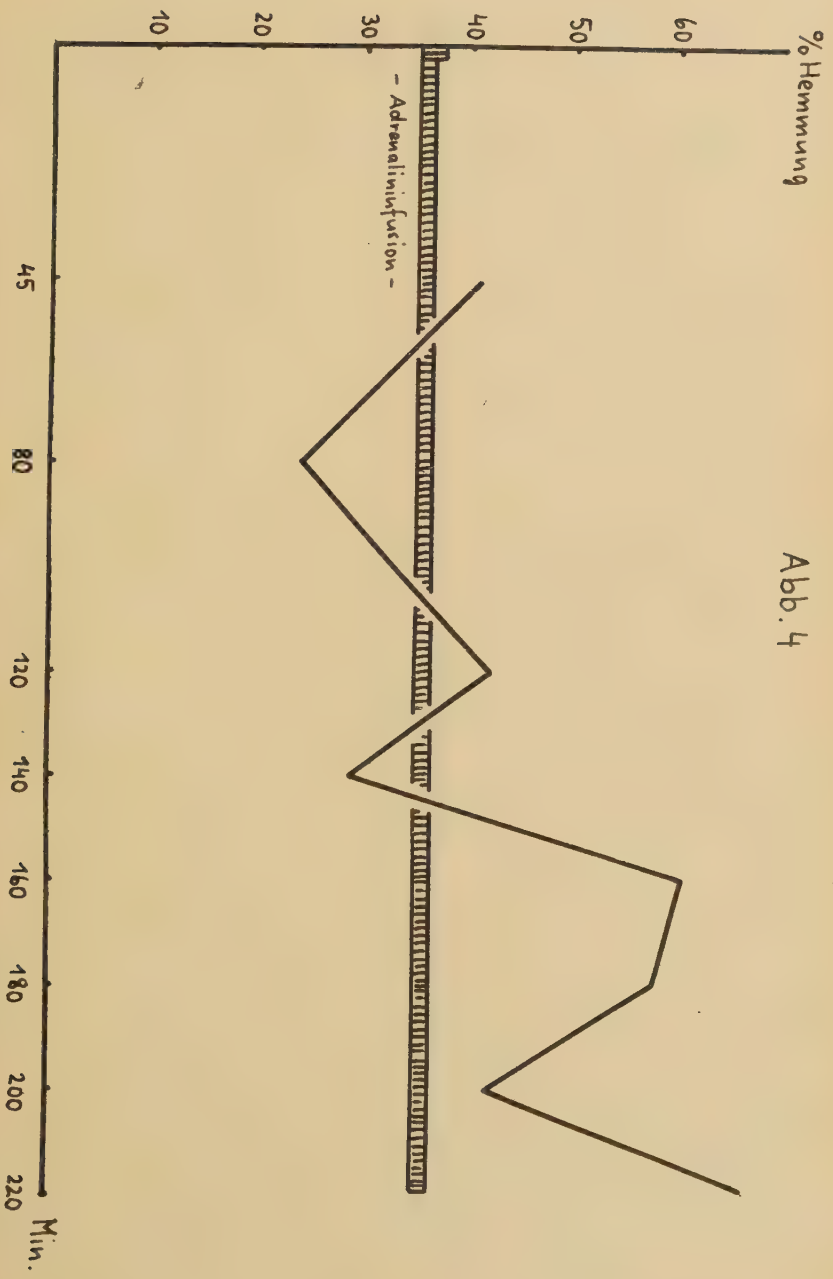
1. Tiergruppe

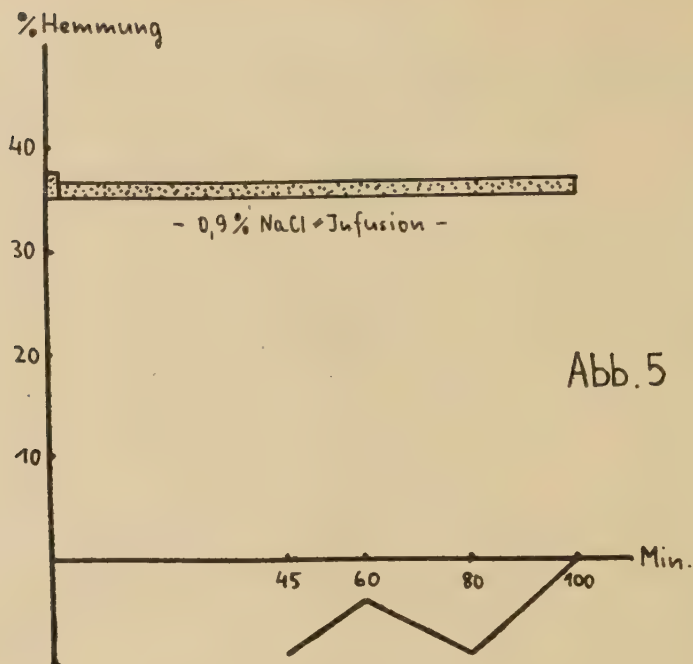
Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel		
	vor	45' nach	vor	45' 80' nach	Infusionsbeginn
17	130	131	227	205	174
18	125	123	250	192	255
16	100	120	183	166	180
14	100	103	202	150	139
45	147	150	225	185	195
44	147	138	250	196	255
Hemmung			41.3	23.6	%

2. Tiergruppe

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel						
	vor	120' nach	vor	120' nach	140' nach	160' nach	180' nach	200' nach	220' nach
73	137	132	237	188	219	178	170	225	168
74	142	137	250	219	231	195	181	174	196
75	147	149	215	181	160	170	173	174	150
76	127	132	214	176	200	150	182	189	-
Hemmung			41.9	29.2	61.4	57.8	42.4	66.6	%

Abb. 4





Normaltiere

Dauer-NaCl 0.05 ml/100 gr, dann weiter 0.025 ml/min.

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	45' nach	vor	45' nach	60' nach	80' nach	100' nach Infusionsbeginn
63	142	140	234	254	252	260	251
81	137	138	250	241	240	250	226
83	138	136	219	246	221	233	223
84	132	130	238	236	243	232	241
Hemmung				-9.2	-3.8	-8.7	- %

Besprechung der Ergebnisse

Im Gegensatz zu den bei adrenalectomierten Ratten gefundenen Verhältnissen zeigt diese Versuchsreihe, daß bei intakten Ratten bereits unter der Adrenalindauerinjektion eine deutliche Hyaluronidasehemmung eintritt. Der Vergleich mit der Injektion von physiol. NaCl-Lösung schließt einen Injektionseffekt aus. Gegenüber den adrenalectomierten Tieren müßte also ein in der Anwesenheit der Nebenniere begründeter Faktor vorliegen, der zu der Hyaluronidasehemmung führt. Nach den bisherigen Versuchen könnte er nur in einer zusätzlichen Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark zu suchen sein, die in der Gegenregulation nach dem Abfall auf das zwar durch die Dauerinjektion erhöhte Normalniveau die Hyaluronidasehemmung bedingt.

IV. Versuchsgruppe

Fragestellung

Es wurde die zusätzliche Katecholaminausschüttung während einer Adrenalindauerinjektion in einer durch das applizierte Adrenalin via Hypophyse bedingten Nebennierenrindenhormon-Ausschüttung vermutet, die ihrerseits durch die bereits von M a t h i e s ²⁸ und W i e s - m ü l l e r ²⁹ nachgewiesenen Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark eine "Katecholaminspitze" auf das künstlich überhöhte Niveau setzt. Um dieser Frage näher nachgehen zu können, mußten zunächst die Verhältnisse der Hyaluronidasehemmung unter Glucocorticoiden bei intakten, adrenalectomierten und hypophysektomierten Ratten geklärt werden. M a t h i e s ^{2,3,5,6,11} und Mitarbeiter ^{14,17,18,27} hatten unter Acetylsalicylsäure ^{2,3,27}, Phenylbutazon ^{5,14}, Chloraethylbenzmethoxazon ^{6,17} und Moorbädern ^{7,11,18} zeigen können, daß die bei Normalratten vorhandene Hyaluronidasehemmung bei adrenalectomierten Ratten ausbleibt, bei hypophysektomierten Tieren dagegen erhalten ist. Da nach Versuchen von D o m e n j o z ³⁰ unter hyaluronidasehemmenden Substanzen, die als Ausdruck der inkretorischen Aktivität der Nebennierenrinde geltende Ascorbinsäure- und Cholesterin-Depletion der Nebenniere bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt, obwohl nach unseren Versuchen die Hyaluronidasehemmung erhalten ist, muß gefolgert werden, daß eine Nebennierenrindenfunktion nicht für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung verantwortlich gemacht werden

kann. Da aber bei adrenaletomierten Ratten die Hemmung ausbleibt, die Nebenniere also doch notwendig ist, bleibt anzunehmen, daß das Nebennierenmark durch eine Katecholaminwirkung die in-vivo-Hyaluronidasehemmung durch die verschiedenen Substanzen zuwegebringt. Diese Tatsache wurde durch den von M a t h i e s ^{4,5,6,9,10,11} und Mitarbeitern ^{13,15,16,19} erbrachten Nachweis der Katecholaminausschüttung durch diese Substanzen bzw. ergänzend durch die in der Einleitung erwähnten Untersuchungen der Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin bzw. Noradrenalin erhärtet.

Die hier folgenden Versuche klären die Verhältnisse des Wirkungsmechanismus der Hyaluronidasehemmung durch ein i.v. zugeführtes wasserlösliches Prednisolon.

Methodik

Die Bestimmung der Hyaluronidasehemmung geschah nach oben beschriebener Methodik. Es wurde in drei Versuchsreihen (intakte, adrenaletomierte und hypophysektomierte Ratten) die Hemmung bestimmt. Die Adrenaletomie wurde wie in der I. Versuchsgruppe beschrieben durchgeführt. Die Hypophysektomie wurde in Äthernarkose parapharyngeal vorgenommen. Die Tiere erhielten als Trinkflüssigkeit eine 2%ige Rohrzuckerlösung. Eine besondere Diät erübrigte sich, da die Tiere zwei Tage nach der Hypophysektomie in Versuch genommen wurden. Prednisolon wurde in wässriger Lösung mit 2,5mg/100 g Ratte in einmaliger Gabe in die Femoralvene injiziert.

5. Versuchsreihe

Es wurde bei Normalratten die Hyaluronidasehemmung durch Prednisolon 0', 15', 45', 60', 80', 120', 160' und 200' nach der Injektion bestimmt. Die Ergebnisse zeigen Tabelle 6 und 17 und Abbildung 6.

6. Versuchsreihe

Die bei adrenaletomierten Tieren gefundenen Werte 0', 15', 45', 60', 80', 120' und 160' nach der Prednisolon-Injektion sind auf Tabelle 7 und 18 und Abbildung 6 verzeichnet.

7. Versuchsreihe

Die Hyaluronidasehemmung 80', 120', 160' und 200' bei hypophysektomierten Ratten wurde in der gleichen Weise bestimmt. Die gefundenen

Normaltiere

• Solu-Decortin-H 2.5 mg/100 gr

1. Tiergruppe

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	0' nach	vor	0' nach	15' Injektionsbeginn	45'	60'
36	117	121	196	208	203	252	225
37	124	119	228	226	201	221	227
43	115	120	192	191	197	231	203
Hemmung			-3.5	5.8	-33.8	-15.0	%

2. Tiergruppe

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	80' nach	vor	80' nach	120' Injektionsbeginn	160'	200'
38	114	127	190	176	168	172	235
42	106	108	206	159	167	180	198
39	116	111	228	156	174	181	210
Hemmung			46.2	39.9	31.6	-6.6	%

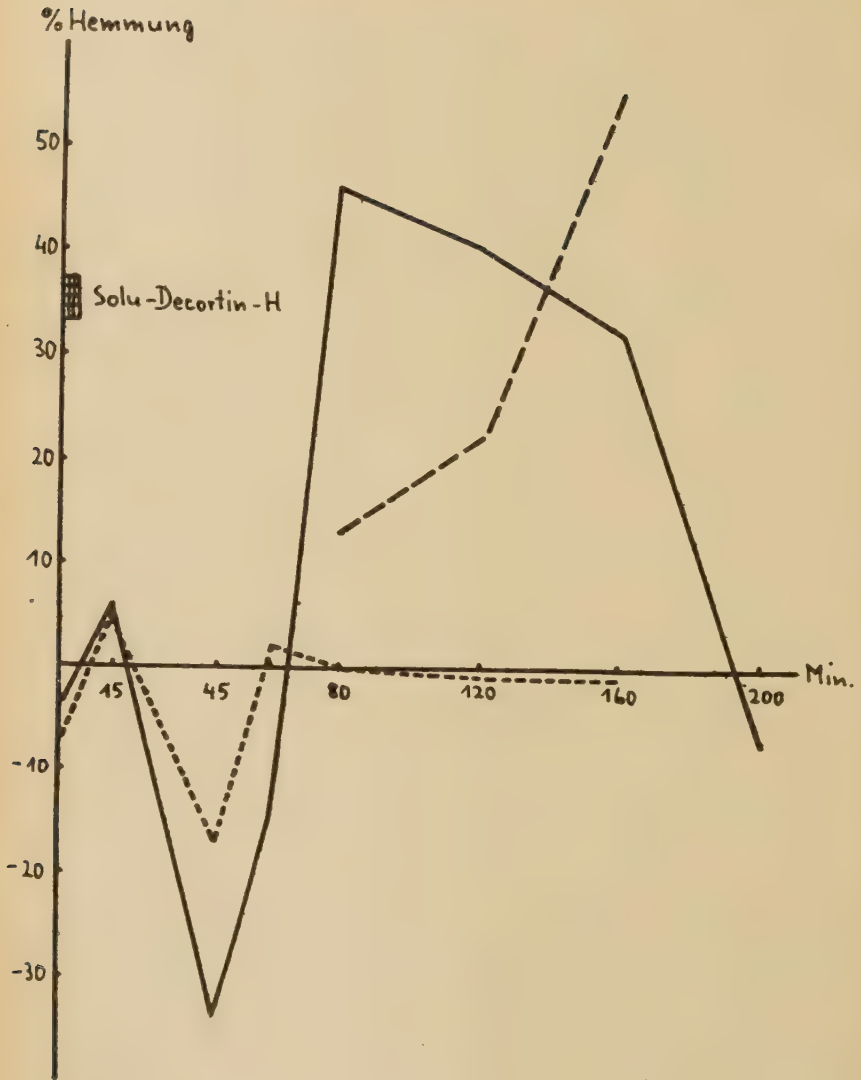


Abb. 6

Adrenalektomierte Tiere

Solu-Decortin-H 2.5 mg/100 gr

1. Tiergruppe

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	0' nach	vor	0' nach	15' Injektionsbeginn	45'	60'
24	121	128	199	214	191	218	212
29	112	123	199	209	187	223	210
34	108	122	200	193	206	201	170
Hemmung			-7.0	5.4	-17.1	2.3	%

2. Tiergruppe

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel			
	vor	80' nach	vor	80' nach	120' Injektionsbeginn	160'
28	129	119	200	208	207	206
26	119	115	200	215	199	205
27	135	126	225	205	221	208
25	105	113	200	198	201	208
Hemmung			-0.3	-0.9	-0.6	%

Verhältnisse finden sich in Tabelle 8 und 19 und Abbildung 6.

Besprechung der Ergebnisse

Die Versuchsreihen dieser Gruppe zeigen, daß wie bei Acetylsalicylsäure, Phenylbutazon, Chloraethylbenzmethoxazon und Moorbädern auch unter Prednisolon als Vertreter der Nebennierenrindenhormon-Derivate die bei intakten Ratten statistisch zu sichernde Hyaluronidasehemmung nach Adrenalektomie ausfällt, bei hypophysektomierten Tieren dagegen erhalten ist. In der Fragestellung zu dieser Versuchsgruppe wurde erwähnt, daß die von D o m e n j o z ³⁰ geprüften hyaluronidasehemmenden Substanzen bei hypophysektomierten Ratten eine bei intakten Ratten vorhandene Ascorbinsäure- und Cholesterinabnahme vermissen lassen. Eine Ausnahme macht Cortison als Vertreter der Nebennierenrindenhormone insofern, als auch bei intakten Ratten kein Depletions-Effekt sichtbar ist. Im Zusammenhang mit dem bereits erwähnten Nachweis der Katecholaminausschüttung aus der Nebenniere unter Hydrocortison können wir trotzdem den gleichen Wirkungsmechanismus der Hyaluronidasehemmung durch die Glucocorticoide annehmen, wie er am Beispiel der Acetylsalicylsäure, des Phenylbutazons, des Chloraethylbenzmethoxazons und des Moores für andere hyaluronidasehemmende Substanzen bzw. Methoden gefunden wurde. Der fehlende Depletionseffekt der Glucocorticoide auch bei intakten Tieren ist durch deren Hemmung auf die ACTH-Freisetzung im Sinne der bekannten physiologisch vorhandenen Selbststeuerung zu erklären. Wir können also sagen, daß die Glucocorticoide auch bei Normalratten keine inkretorische Nebennierenrinden-Funktion auslösen, da ein solcher Effekt durch die Corticoidapplikation ohnehin gebremst würde. Aber auch bei den Glucocorticoiden ist die Nebennierenmark-Funktion für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung erforderlich.

V. Versuchsgruppe

Fragestellung

Falls die Hyaluronidasehemmung bei Normaltieren während der Adrenalin-Dauerinjektion durch eine via Hypophyse ablaufende Nebennierenrindenhormon-Ausschüttung zustandekommt, die ihrerseits eine Katecholaminspitze auf das durch die Adrenalin-Injektion bereits erhöhte Niveau setzt, so muß das gleiche Ergebnis der Hemmung während der Adrenalin-

Hypophysektomierte Tiere

Solu-Decortin-H 2.5 mg/100 gr

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel			
	vor	80' nach	vor	80'	120'	160' 'nach Injektionsbeginn
48	156	145	243	242	251	210
51	150	149	220	203	195	174
59	150	137	259	236	208	178
61	152	147	230	228	223	200
Hemmung			12.5	21.8	55.2	%

Dauerinjektion auch bei adrenalektomierten Ratten zu erzielen sein, wenn man auf den erzielten Adrenalin Spiegel eine "Spitze" setzt, nach deren Abfall eine Hyaluronidasehemmung sichtbar werden müßte.

Methodik

Die Methodik der Bestimmung der Hyaluronidasehemmung ist die gleiche wie in den bisherigen Versuchen. Der Injektionsmodus des i.v. zugeführten Adrenalins ist bei den einzelnen Versuchsreihen 8 und 9 beschrieben.

8. Versuchsreihe

Es wurden den adrenalektomierten Ratten anfangs 6 μ Adrenalin/100 g Tier im Verlauf von 10 Minuten i.v. injiziert. Dann erfolgte die weitere Gabe mit 0,5 μ /Min.. Nach 50 Minuten erfolgt eine erneute Applikation von 6 μ innerhalb 10 Minuten, anschließend wurde wieder bis 160 Minuten nach Versuchsbeginn weiter 0,5 μ /Min. i.v. gegeben. Das Ausmaß der Hyaluronidasehemmung 45', 55', 70', 100', 115', 135', 155' und 175' nach Versuchsbeginn sowie 45' nach Absetzen der Injektion ist aus Tabelle 9 und 20 und Abbildung 7 ersichtlich.

9. Versuchsreihe

In dieser Versuchsreihe wurden zu Beginn wieder 6 μ /100 g Tier im Verlauf von 10 Minuten injiziert, dann weiter 0,5 μ /Min., 50 Minuten nach Versuchsbeginn 3 μ /100 g innerhalb einer Minute, dann wieder 0,5 μ /Min. über insgesamt 115 Minuten seit Versuchsbeginn. Tabelle 10 und 21 und Abbildung 8 zeigen die Ergebnisse.

Besprechung der Ergebnisse

In den Versuchen der V. Versuchsgruppe (8. und 9. Versuchsreihe) ist gegenüber den Versuchen der I. Versuchsgruppe (1. Versuchsreihe) zweimal eine Adrenalin-"Spitze" über das durch die Dauerinjektion eingestellte Niveau gesetzt worden, und zwar in beiden Versuchsreihen zu Beginn mit 6 μ und nach 50 Minuten mit 6 μ bzw. 3 μ . Neben der stärksten Hemmung 45' nach Absetzen der Injektion sind beide "Spitzen" von einer signifikanten Hyaluronidasehemmung gefolgt, und zwar im Abstand von etwa 45 bis 70 Minuten nach Beginn der Injektion der vermehrten Dosis. Diese Latenzzeit entspricht etwa den Verhältnissen, wie sie Mathies²⁰ und Scheufele²¹ nach einmaliger Katecholaminapplikation und in Abhängigkeit von der Dosis gefunden haben. Es

Adrenalektomierte Tiere

6 γ /100 gr Adrenalin, dann 1/2 γ /min.; als Spitze wieder
6 γ /100 gr, dann 1/2 γ /min.

1. Tiergruppe

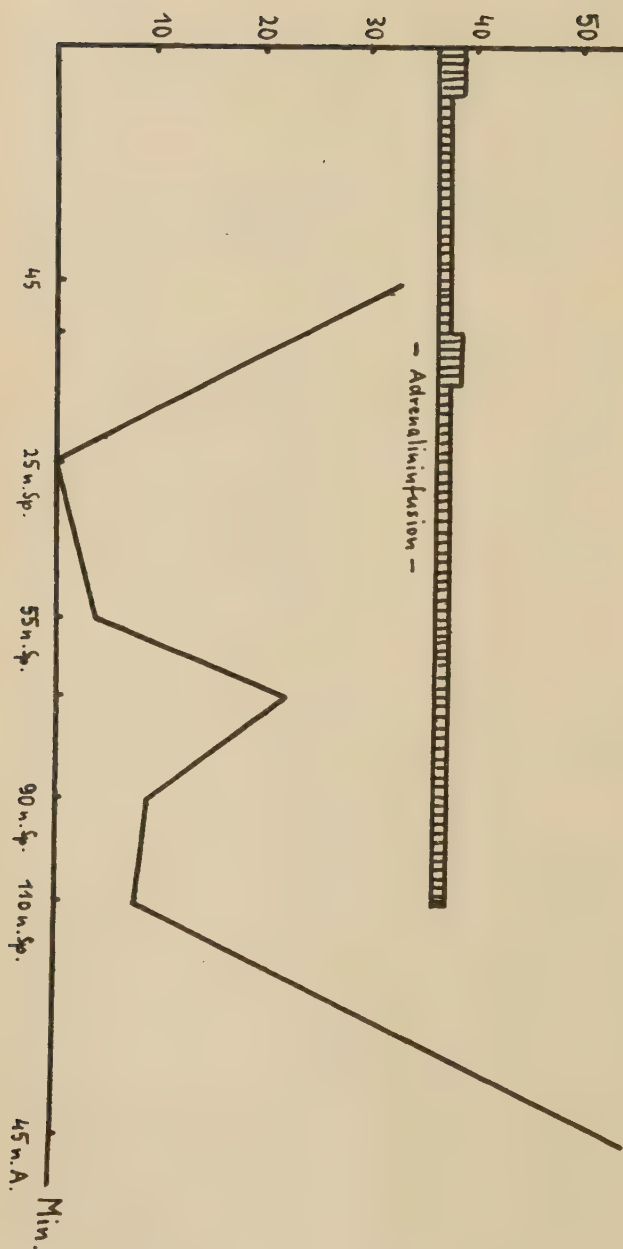
Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel			
	vor	45' nach	vor	45' n.I.	25' nach Spitze	55'
54	140	136	239	240	248	239
55	135	140	245	211	258	255
56	130	130	256	180	239	234
57	135	140	246	190	240	242
Hemmung			32.5	0.2	3.9	%

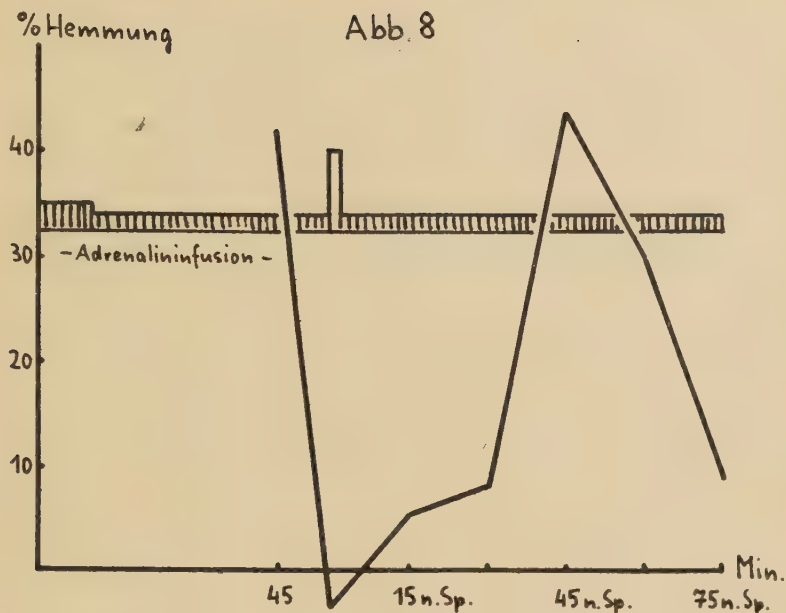
2. Tiergruppe

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	55' nach I.	vor	70' nach Spitze	90'	110'	45' n.Abs.
77	140	138	253	223	240	225	170
78	133	140	221	210	235	236	186
79	140	135	237	210	210	224	178
80	135	137	230	212	221	225	193
Hemmung			21.9	8.9	7.9	54.5	%

% Hemmung

Abb. 7





Adrenalektomierte Tiere

6 γ /100 gr Adrenalin, dann 1/2 γ /min.; als Spitze
3 γ /100 gr/min. dann 1/2 γ /min.

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hy-ase-Quaddel							
	vor	45'	nach	vor	45'	0'	15'	30'	45'	60'	75'
						n.I.	nach	Spitze			
69	132	135		228	185	-	250	237	164	214	-
70	138	134		243	196	236	190	192	206	227	237
71	149	144		223	199	236	230	240	201	173	215
72	135	140		235	190	233	240	230	195	203	227
Hemmung				42.4	-2.7	5.1	8.0	43.5	29.9	8.5%	

kommt also eine Hyaluronidasehemmung auch in der Gegenregulation auf einzelne größere Adrenalindosen zustande, wenn gleichzeitig eine laufende Zufuhr kleinerer Mengen erfolgt. Auf in-vivo-Verhältnisse übertragen würde das bedeuten, daß ein Stoff, der zusätzlich zu einer laufenden Adrenalinzufuhr eine zeitweilige Ausschüttung von Nebennierenmark-Katecholaminen bewerkstelligt, nach dem Unwirksamwerden des zusätzlich ausgeschütteten Adrenalins zu einer Hyaluronidasehemmung führt. Gleichzeitig bestätigen die Versuche der 9. Versuchsreihe die von S e l y e ³¹ mitgeteilte Beobachtung, daß tödliche Adrenalindosen nach längerer Adrenalininfusion nicht mehr tödlich wirken. In unseren Vorversuchen testeten wir die verträgliche Dosis aus und konnten die Ratten nur am Leben erhalten, wenn wir höchstens 1 μ /Min. i.v. verabreichten. Nach einer längeren Adrenalininfusion von 50 Minuten Dauer (Versuchsreihe 9) war es möglich, 3 μ /Min. zu injizieren.

VI. Versuchsgruppe

Fragestellung

Wenn nach den Ergebnissen der Vorversuche in Erwägung gezogen wurde, daß die im Gegensatz zu den adrenaletomierten Ratten bei Normaltieren schon während der Adrenalindauerinfusion auftretende Hyaluronidasehemmung durch eine Nebennierenrindenhormon-Ausschüttung via Adrenalin-Hypophyse-ACTH zustandekommt, so müßte diese Hemmung während der Adrenalin-Dauerinfusion bei hypophysektomierten Ratten nicht vorhanden sein.

Methodik

Aus oben genannter Überlegung wurden Versuche an hypophysektomierten Ratten mit Adrenalin-Dauerinjektionen angesetzt. Einzelheiten zur Hypophysektomie wurden in der IV. Versuchsgruppe erwähnt. Die Adrenalininjektion wurde mit 1 μ (im Verlauf einer Minute i.v. injiziert) begonnen und mit 0,5 μ /Min. über 120 Minuten fortgesetzt.

10. Versuchsreihe

Die Hyaluronidasehemmung wurde bei oben angegebener Versuchsanordnung 4', 80', 120' nach Beginn und 45 Minuten nach Beendigung der Injektion gemessen. Die Ergebnisse finden wir in Tabelle 11 u. 22 und Abbildung 9.

Hypophysektomierte Tiere

Dauer-Adrenalin $1\gamma/100$ gr, dann $1/2\gamma/\text{min.}$

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	45' nach	vor	45' nach Inf.	80'	120'	45' n.Abs.
52	150	148	256	229	253	253	220
62	133	145	227	242	196	214	180
64	137	150	240	236	212	213	-
65	137	139	256	219	190	228	189
Hemmung			12.6	30.3	16.8	46.4	%

- Tabelle 11 -

Adrenalektomierte Tiere

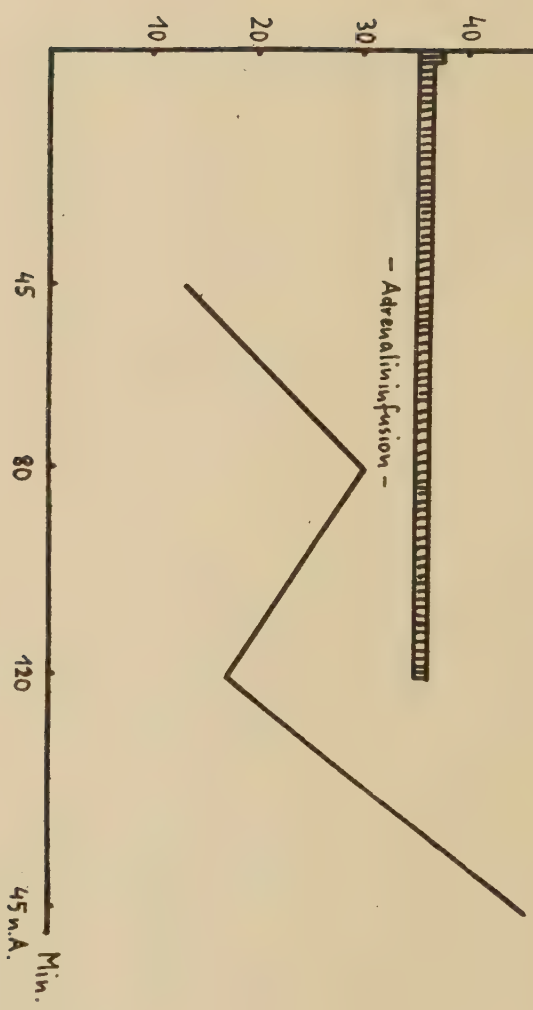
Dauer-Adrenalin $1\gamma/100$ gr, dann $1/2\gamma/\text{min.}$ Nach 25'
Solu-Decortin-H $2.5 \text{ mg}/100 \text{ gr.}$

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	15' nach	vor	15' nach	45' nach Infusionsbeginn	80' 55' nach Solu-Decort.	120' 95' n.Abs.
30	122	110	211	191	224	221	175
32	111	109	190	190	193	210	-
33	120	130	200	200	183	179	198
31	113	115	197	212	208	200	226
Hemmung			1.5	-3.0	-3.6	1.2	31.0

- Tabelle 12 -

% Hemmung

Abb. 9



Besprechung der Ergebnisse

Die Versuche zeigen, daß die bei Normaltieren vorhandene Hyaluronidasehemmung während der Adrenalin-Dauerinjektion nach Hypophysektomie nicht ausbleibt. Sie ist demnach nur bei adrenaletomierten Ratten nicht vorhanden. Es muß daraus der Schluß gezogen werden, daß eine Nebennierenrindenhormon-Ausschüttung über die Hypophyse durch das Adrenalin nicht für eine zusätzliche Katecholaminfreisetzung verantwortlich gemacht werden kann, die ihrerseits nach Abklingen der Wirkung in der betreffenden Latenzzeit der Gegenregulation die Hyaluronidasehemmung während der laufenden Adrenalin-Injektion bedingt. Wir erinnern uns hier der Meinungen verschiedener Autoren, nach denen Adrenalin nicht zu einer Cortisonausschüttung führt (H u n t e r, B a y l i s s u. S t e i n - b e c k ³² und T h o r n ³³). Dagegen sprechen sich allerdings V o g t ³⁴, G e r s h b e r g u. Mitarb. ³⁵, L o n g ³⁶, L o n g u. F r y ³⁷, G o d o w s k y ³⁸, R e c e n t u. Mitarb. ³⁹, H e c h t e r ⁴⁰, F o r t i e r ⁴¹, M c D e r m o t t u. Mitarb. ⁴² aus, die die heute wohl noch gültige Lehrmeinung vertreten, daß Adrenalin eine Cortisonausschüttung bedingt. Wenn wir trotzdem an einer Nebennierenrindenhormon-Wirkung als Ursache der Hyaluronidasehemmung während der Adrenalindauerinjektion bei intakten Ratten festhalten wollen, so bleibt nur die Hypothese einer direkten Nebennierenrindenhormon-Ausschüttung durch Adrenalin ohne die Mitwirkung der Hypophyse. Auch für diese Ansicht gibt es bereits eine experimentelle Stütze in einer Arbeit von O k i n a k a ⁴³ u.a., die an Hunden nach Adrenalin auch nach Hypophysektomie eine erhöhte Glukokortikoidkonzentration in den Nebennieren-Venen fanden. Versuchsreihen mit Daueradrenalininjektionen und zusätzlichen Corticoidgaben würden hier nicht weiterführen, da bereits bei dieser Versuchsanordnung ohne Corticoid-Injektion eine Hemmung auftritt.

VII. Versuchsgruppe

Fragestellung

Wenn eine Adrenalindauerinjektion bei adrenaletomierten Ratten keine Hyaluronidasehemmung während der Injektion macht und eine Hemmung durch Corticoide nach den Vorversuchen an die Anwesenheit des Nebennierenmarks gebunden ist, so dürfte auch eine zusätzliche Prednisolon-Injektion zur Adrenalin-Dauerinfusion keine Hemmung bedingen. Diese Versuchsreihe

wurde lediglich zusätzlich durchgeführt, ohne daß wir daraus Schlüsse ziehen zu können erwarteten.

Methodik

Bei grundsätzlich gleicher Methodik wurde adrenaletomierten Ratten 1 γ Adrenalin/100 g Tier i.v. im Verlauf einer Minute appliziert, dann weiter 0,5 γ /Min. über 120 Minuten. 25 Minuten nach Injektionsbeginn wurde 2,5 mg Prednisolon/100 g i.v. injiziert.

11. Versuchsreihe

Die Hyaluronidaschemmung wurde bei oben angeführter Versuchsanordnung 15', 45', 80' und 120' nach Versuchsbeginn sowie 45' nach Absetzen der Adrenalin-Injektion gemessen. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 12 und 23 und Abbildung 10 ersichtlich.

Besprechung der Ergebnisse

Wie erwartet führt die Prednisolon-Injektion bei adrenaletomierten Ratten nicht zu einer vorzeitigen Hyaluronidaschemmung. Diese tritt erst 45 Minuten nach Absetzen der Adrenalininjektion in Erscheinung. Eine weitere Klärung der Frage einer Cortisonwirkung als Ursache der vorzeitigen Hyaluronidaschemmung bei intakten Tieren unter einer Adrenalin-Dauerinjektion konnte nicht erbracht werden.

Statistische Auswertung

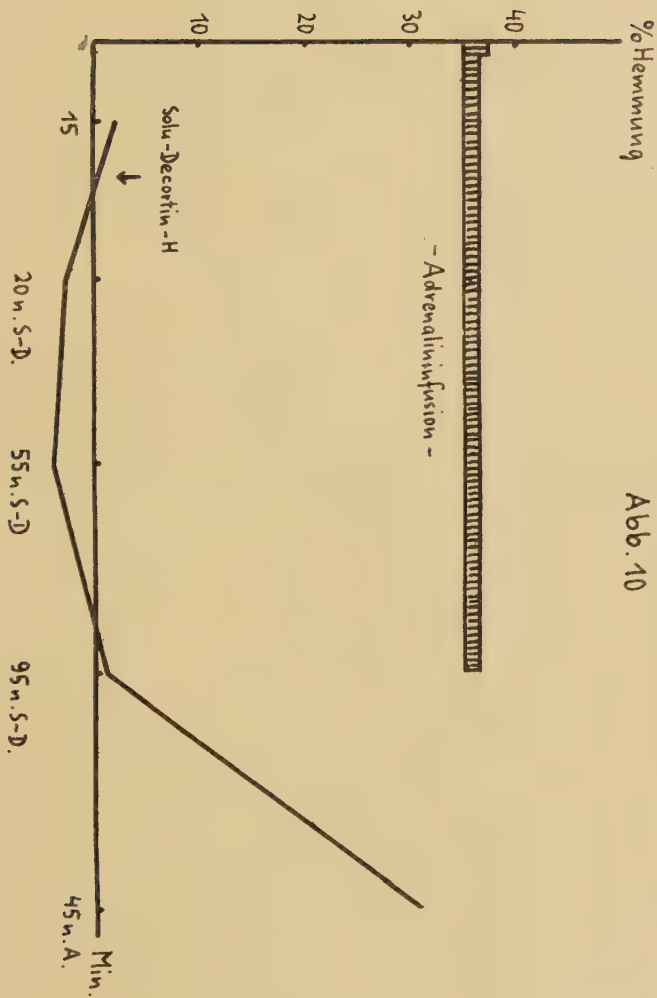
Der Flächeninhalt einer Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel ist wesentlich abhängig 1. vom Versuchstier V_t , 2. vom Zeitpunkt der Bestimmung t . Darüberhinaus unterliegt er Einflüssen, die in Hinblick auf die Versuchsanordnung und die Gesamtfragestellung als von zufälliger Natur angesehen werden können.

Bezeichnet man mit $E(V_t, t)$ den Erwartungswert der am Versuchstier V_t zum Zeitpunkt t bestimmten Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel, so kann angenommen werden, daß $E(V_t, t)$ von der Gestalt

$$(1) \quad E(V_t, t) = a(V_t) + b(t)$$

ist, wo $a(V_t)$ eine nur vom Versuchstier, $b(t)$ eine nur vom Zeitpunkt der Bestimmung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel abhängige Größe ist. Der Ansatz (1) ist äquivalent mit der Hypothese, daß

1. der Unterschied zwischen den Erwartungswerten zweier, zu verschiedenen Zeitpunkten am gleichen Versuchstier bestimmter



Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln vom Versuchstier unabhängig ist; und daß

2. der Unterschied zwischen den Erwartungswerten zweier, an verschiedenen Versuchstieren zum gleichen Zeitpunkt bestimmter Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln vom Zeitpunkt der Bestimmung unabhängig ist.

Bezeichnet $b(\text{vor})$ die zur Bestimmung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor Beginn der Belastung gehörige Konstante in (1), so liegt nur dann eine statistisch gesicherte Hyaluronidasehemmung zum Zeitpunkt t vor, wenn die Differenz $b(\text{vor}) - b(t)$ größer als Null ist.

Die Werte der Differenzen $b(\text{vor}) - b(t)$ sind bekanntlich für jeden Zeitpunkt aus den empirischen Versuchsergebnissen statistisch schätzbar (estimable). Bezeichnet $\bar{x}(\text{vor})$ den Mittelwert der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel aller Versuchstiere (einer Tiergruppe) vor Beginn der Belastung, $\bar{x}(t)$ den Mittelwert der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel der gleichen Tiergruppe zum Zeitpunkt t , so ist $\bar{x}(\text{vor}) - \bar{x}(t)$ die beste Schätzung von $b(\text{vor}) - b(t)$ im Sinne der Methode der kleinsten Quadrate. Nur wenn die Schätzung $\bar{x}(\text{vor}) - \bar{x}(t)$ statistisch wesentlich größer als Null ist, kann angenommen werden, daß auch $b(\text{vor}) - b(t)$ größer als Null ist, und damit die Hyaluronidasehemmung zum Zeitpunkt t als statistisch gesichert gelten.

Die fraglichen Mittelwerte sind in den Tabellen für jeden Zeitpunkt angegeben. s^2 bzw. s ist die Varianz bzw. die Streuung der Meßwerte aller Tiere zu dem jeweiligen Zeitpunkt. Ebenfalls angegeben wurde die auf dem üblichen Wege errechnete Hyaluronidase-Hemmung in Prozenten. Diejenigen Zeitpunkte, an denen die Hyaluronidasehemmung im oben angegebenen Sinne statistisch gesichert werden konnte, sind in der Zeile "Signifikanz" durch ein "+" gekennzeichnet und darunter die Irrtumswahrscheinlichkeit p , mit welcher die statistische Sicherung behaftet ist, angegeben.

Die eigentliche statistische Auswertung nahmen wir unter Zugrundelegung unserer Hypothesen mittels zweifacher Varianz-Analysen der Meßergebnisse der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln jeder Tiergruppe vor. Dabei setzten wir noch zusätzlich voraus, daß die auftretenden Verteilungen Normalverteilungen sind, und daß keine Wechselwirkungen zwischen den Tieren und den Zeiten vorliegen. Unter diesen Annahmen

Adrenalektomierte Tiere

Dauer-Adrenalin $1\gamma/100$ gr, dann $1/2\gamma/\text{min.}$

	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel					
	vor	15' nach	vor	15' nach	30' Infusionsbeginn	45'		
$\bar{x}$	143	145	237	234	236	240		mm^2
s^2	7	134	354	329	190	533		
s	2.6	11.6	18.8	18.1	13.8	23.1		
Hemmung				2.4	0.3	-3.5		%
Signifikanz				-	-	-		
p				-	-	-		
Tierzahl N = 4								

- Tabelle 13 -

Adrenalektomierte Tiere

Acetylcholin 0.2 mg/100 gr und Prostigmin $1\gamma/100$ gr

	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel					
	vor	0' nach	vor	0' nach	15' Injektionsbeginn	45'	60'	
$\bar{x}$	115	118	202	196	199	192	203	mm^2
s^2	213	159	203	294	523	82	343	
s	14.6	12.6	14.2	17.1	22.9	9.1	18.5	
Hemmung				7.4	4.3	11.7	-0.5	%
Signifikanz				-	-	-	-	
p				-	-	-	-	
Tierzahl N = 4								

- Tabelle 14 -

Normaltiere

Dauer-Adrenalin $1\gamma/100$ gr, dann $1/2\gamma/\text{min.}$

1. Tiergruppe

	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel			
	vor	45' nach	vor	45' nach	80' Infusionsbeginn	
$\bar{x}$	125	128	223	182	200	mm ²
s ²	449	261	704	423	2174	
s	21.2	16.2	26.5	20.6	46.6	
Hemmung				41.3	23.6	%
Signifikanz				+	-	
p				1.0		%
Tierzahl N = 6						

2. Tiergruppe

	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel						
	vor	120' nach	vor	120' nach	140' Infusionsbeginn	160'	180'	200'	220'
$\bar{x}$	138	138	229	191	202	173	176	191	168mm ²
s ²	73	64	309	373	965	349	35	579	390
s	8.5	8.0	17.6	19.3	31.1	18.7	5.9	24.1	19.7
Hemmung				41.9	29.2	61.4	57.8	42.4	66.6%
Signifikanz				+	+	+	+	+	+
p				1.0	5.0	1.0	1.0	1.0	1.0%
Tierzahl N = 4									

Normaltiere

Dauer-NaCl 0.05 ml/100 gr, dann weiter 0.025 ml/min.

	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	45' nach	vor	45' nach	60' Infusionsbeginn	80'	100'
$\bar{x}$	137	136	235	244	239	244	235 mm ²
s^2	17	19	164	59	170	186	172
s	4.1	4.4	12.8	7.7	13.0	13.6	13.1
Hemmung				-9.2	-3.8	-8.7	- %
Signifikanz				-	-	-	-
p				-	-	-	-
Tierzahl N = 4							

- Tabelle 16 -

Normaltiere

Solu-Decortin-H 2.5 mg/100 gr

1. Tiergruppe

	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	0' nach	vor	0' nach	15' Injektionsbeginn	45'	60'
$\bar{x}$	119	120	205	208	200	235	218 mm ²
s^2	23	1	389	306	9	250	177
s	4.8	1.0	19.7	17.5	3.0	15.8	13.3
Hemmung				-3.5	5.8	-33.8	-15.0 %
Signifikanz				-	-	-	-
p				-	-	-	-
Tierzahl N = 3							

- Tabelle 17 -

2. Tiergruppe

	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	80' nach	vor	80' nach	120' Injektionsbeginn	160'	200'
$\bar{x}$	112	115	208	164	170	178	214 mm ²
s ²	28	104	364	116	14	24	356
s	5.3	10.2	19.1	10.8	3.7	4.9	18.9
Hemmung				46.2	39.9	31.6	-6.6 %
Signifikanz				+	+	+	-
p				1.0	2.0	5.0	- %
Tierzahl N = 3							

- Tabelle 17 -

Adrenalektomierte Tiere

Solu-Decortin-H 2.5 mg/100 gr

1. Tiergruppe

	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	0' nach	vor	0' nach	15' Injektionsbeginn	45'	60'
$\bar{x}$	114	124	199	205	195	214	197 mm ²
s ²	44	10	1	120	100	133	561
s	6.6	3.2	1.0	11.0	10.0	11.5	23.7
Hemmung				-7.0	5.4	-17.1	2.3 %
Signifikanz				-	-	-	-
p				-	-	-	-
Tierzahl N = 3							

- Tabelle 18 -

2. Tiergruppe

	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	80' nach	vor	80' nach	120' Injektionsbeginn	160' Injektionsbeginn	
$\bar{x}$	122	118	206	206	207	207	mm ²
s ²	172	33	156	50	99	2	
s	13.1	5.7	12.5	7.1	9.9	1.4	
Hemmung				-0.3	-0.9	-0.6	%
Signifikanz				-	-	-	
p				-	-	-	
Tierzahl N = 4							

- Tabelle 18 -

Hypophysektomierte Tiere

Solu-Decortin-H 2.5 mg/100 gr

	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
	vor	80' nach	vor	80' nach	120' Injektionsbeginn	160' Injektionsbeginn	
$\bar{x}$	152	145	238	227	219	190	mm ²
s ²	8	28	285	294	579	300	
s	2.8	5.3	16.9	17.1	24.1	17.3	
Hemmung				12.5	21.8	55.2	%
Signifikanz				-	-	+	
p				-	-	1.0	%
Tierzahl N = 4							

- Tabelle 19 -

Adrenalektomierte Tiere

6 γ /100 gr Adrenalin, dann 1/2 γ /min.; als Spitze wieder
6 γ /100 gr, dann 1/2 γ /min.

1. Tiergruppe

Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
vor	45'	nach	vor	45'	25'	55'	
				nach	nach	Spitze	
				Inf.			
$\bar{x}$	135	136	246	205	246	242	mm ²
s ²	17	22	50	704	243	80	
s	4.1	4.7	7.1	26.5	15.6	8.9	
Hemmung				32.5	0.2	3.9	%
Signifikanz				+	-	-	
p				2.0	-	-	%
Tierzahl N = 4							

2. Tiergruppe

Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hy'ase-Quaddel					
vor	55'	nach I.	vor	70'	90'	110'	45'	
				nach	Spitze		n.Absetz.	
$\bar{x}$	137	138	235	214	226	228	182	mm ²
s ²	13	4	183	39	186	32	99	
s	3.6	2.0	13.5	6.2	13.6	5.6	9.9	
Hemmung				21.9	8.9	7.9	54.5	%
Signifikanz				+	-	-	+	
p				2.0	-	-	1.0	%
Tierzahl N = 4								

Adrenalektomierte Tiere

6 γ /100 gr Adrenalin, dann 1/2 γ /min.; als Spitze
3 γ /100 gr/min. dann 1/2 γ /min.

Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hy'ase-Quaddel						
vor	45'		vor	45'	0'	15'	30'	45'	60'
	nach			n.I.	nach	Spitze			
$\bar{x}$	138	138	232	192	235	228	225	192	204 mm ²
s ²	55	22	76	39	9	692	494	356	530
s	7.4	4.7	8.7	6.2	3.0	26.3	22.2	18.9	23.0
Hemmung				42.4	-2.7	5.1	8.0	43.5	29.9 %
Signifikanz				+	-	-	-	+	-
p				2.0	-	-	-	2.0	- %
Tierzahl N = 4									

- Tabelle 21 -

Hypophysektomierte Tiere

Dauer-Adrenalin 1 γ /100 gr, dann 1/2 γ /min.

Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hy'ase-Quaddel				
vor	45'		vor	45'	80'	120'	45'
	nach			nach	Inf.		n.Abs.
$\bar{x}$	139	146	245	232	213	227	196 mm ²
s ²	55	23	197	98	806	347	295
s	7.4	4.8	14.0	9.9	28.4	18.6	17.2
Hemmung				12.6	30.3	16.8	46.4 %
Signifikanz				-	+	-	+
p				-	2.0	-	1.0 %
Tierzahl N = 4							

- Tabelle 22 -

Adrenalektomierte Tiere

Dauer-Adrenalin $1\gamma/100$ gr, dann $1/2\gamma/\text{min.}$ Nach 25'
 Solu-Decortin-H $2.5 \text{ mg}/100 \text{ gr.}$

Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hy'ase-Quaddel					
vor	15'	nach	vor	15'	45'	80'	120'	45'
				nach	Infusionsbeginn			n.Abs.
					20'	55'	95'	
					nach S-Decortin			
$\bar{x}$	116	116	200	198	202	202	198	174 mm^2
s^2	28	94	76	104	321	319	440	229
s	5.3	9.7	8.7	10.2	17.9	17.9	21.0	15.1
Hemmung				1.5	-3.0	-3.6	1.2	31.0 %
Signifikanz				-	-	-	-	-
p				-	-	-	-	-
Tierzahl N = 4								

- Tabelle 23 -

ist die aus der Varianz-Analyse gewonnene Rest-Varianz die beste Schätzung des Versuchsfehlers.

In den Tabellen sind die Varianz-Analysen in der üblichen Form wiedergegeben. SAQ ist das Summen-Abstands-Quadrat, MAQ das Mittlere-Abstands-Quadrat und n die Zahl der Freiheitsgrade der betreffenden Varianz-komponenten. Unter $F_{\text{emp.}}$ ist der Varianz-Quotient zwischen der zugehörigen Varianz und der Rest-Varianz angegeben (soweit diese kleiner ist als jene).

Überschritt der zur "Varianz zwischen den Zeiten" gehörige Varianz-Quotient $F_{\text{emp.}}$ die 5%-Sicherheitsgrenze der zugehörigen F-Verteilung, so verwarfen wir die der Prüfung zugrundeliegende Null-Hypothese, die Konstanten $b(t)$ seien alle gleich. Für die übrigen Versuchsreihen ergaben die Varianz-Analysen keine Veranlassung, eine Hyaluronidasehemmung auf Grund der Belastung anzunehmen.

Bei denjenigen Versuchsreihen, bei denen sich aus den Varianz-Analysen das Vorliegen von Hyaluronidasehemmungen ergaben, führten wir die weiteren Untersuchungen zur Bestimmung der Zeitpunkte, an denen Hyaluronidasehemmungen eintraten, nicht wie sonst üblich mittels des Student-Testes (t -Test) durch, sondern in Hinblick auf die gegen dieses Verfahren zu Recht von verschiedenen Autoren erhobenen Bedenken, mittels eines von Duncan⁴⁴ entwickelten Testes (s.a. Weber⁴⁵). Wir prüften hierbei, für welche Zeitpunkte die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel von der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor der Belastung statistisch wesentlich verschieden ist. Die Ergebnisse dieser Prüfungen sind in der bereits erläuterten Weise in den Tabellen wiedergegeben.

Die Tatsache, daß die "Varianz zwischen den Tieren" für einzelne Tiergruppen statistisch wesentlich größer ist als die Rest-Varianz, besagt, daß hinsichtlich der absoluten Werte der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln zwischen den einzelnen Tieren Unterschiede bestehen, die nicht zufälliger Natur sind. (Hinsichtlich der Größen $a(Vt)$ des Ansatzes (1) bedeutet dieses, daß diese individuellen Konstanten der Versuchstiere verschieden sind.)

Hinsichtlich der während der Belastung bestimmten reinen Farbstoff+

Tabelle 13 a

15' bis 45'

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	3	2 029	676	2.78	-
Zwischen den Zeiten	3	62	21	-	-
Rest-Varianz	9	2 188	243		
Gesamt-Varianz	15	4 279	285		

!

Tabelle 14 a

0' bis 60'

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	3	2 847	949	7.65	0.1%
Zwischen den Zeiten	4	326	82	-	-
Rest-Varianz	12	1 488	124		
Gesamt-Varianz	19	4 661	245		

Tabelle 15 a

45' bis 120'

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	5	13 101	2 620	5.95	1.0%
Zwischen den Zeiten	3	5 065	1 688	3.84	5.0%
Rest-Varianz	15	6 602	440		
Gesamt-Varianz	23	24 769	1 077		

120' bis 220'

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	3	4 486	1 495	5.96	1.0%
Zwischen den Zeiten	6	10 414	1 736	6.92	0.1%
Rest-Varianz	18	4 514	251		
Gesamt-Varianz	27	19 414	719		

Tabelle 16 a

45' bis 100'

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	3	1 218	406	4.72	5.0%
Zwischen den Zeiten	4	308	77	-	-
Rest-Varianz	12	1 033	86		
Gesamt-Varianz	19	2 559	135		

Tabelle 17 a

0' bis 60'

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	2	879	440	2.59	-
Zwischen den Zeiten	4	2 214	554	3.20	-
Rest-Varianz	8	1 387	173		
Gesamt-Varianz	14	4 480	320		

80' bis 200'

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	2	170	85	-	-
Zwischen den Zeiten	4	6 359	1 590	8.03	1.0%
Rest-Varianz	8	1 580	198		
Gesamt-Varianz	14	8 109	579		

Tabelle 18 a

0' bis 60'

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	2	500	250	1.51	-
Zwischen den Zeiten	4	713	178	1.07	-
Rest-Varianz	8	1 331	166		
Gesamt-Varianz	14	2 544	182		

80' bis 160'

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	3	3	1	-	-
Zwischen den Zeiten	3	381	127	2.12	-
Rest-Varianz	9	538	60		
Gesamt-Varianz	15	922	61		

Tabelle 19 a

80' bis 160'

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	3	2 760	920	3.36	-
Zwischen den Zeiten	3	5 627	1 876	6.85	2.0%
Rest-Varianz	9	2 469	274		
Gesamt-Varianz	15	10 856	724		

Tabelle 20 a

45' und
10' bis 55' n.Sp.

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	3	740	247	-	-
Zwischen den Zeiten	3	4 800	1 600	5.78	2.0%
Rest-Varianz	9	2 490	277		
Gesamt-Varianz	15	8 030	535		

55' bis 110' n.Sp.
und 45' n.A.

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	3	256	85	-	-
Zwischen den Zeiten	5	7 376	1 475	14.46	0.1%
Rest-Varianz	15	1 525	102		
Gesamt-Varianz	23	9 157	398		

Tabelle 21 a
45' und
0' bis 60' n.Sp.

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	3	100	33	-	-
Zwischen den Zeiten	6	8 448	1 408	3.92	2.0%
Rest-Varianz	18	6 468	359		
Gesamt-Varianz	27	15 016	556		

Tabelle 22 a
45' bis 120'
und 45' n.A.

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	3	2 760	920	4.47	5.0%
Zwischen den Zeiten	4	5 627	1 407	6.83	1.0%
Rest-Varianz	12	2 469	206		
Gesamt-Varianz	19	10 856	571		

Tabelle 23 a
15' dann
20' bis 95' n. Decort.
und 45' n.A.

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	3	491	164	-	-
Zwischen den Zeiten	5	2 386	477	1.80	-
Rest-Varianz	15	3 977	265		
Gesamt-Varianz	23	6 854	298		

Quaddeln ist zu bemerken, daß diese in keiner statistisch faßbaren Weise von den reinen Farbstoff-Quaddeln vor der Belastung abweichen. Im Rahmen des durch die Versuchsanordnung und die Zahl der Versuchstiere bedingten Versuchsfehlers, kann daher behauptet werden, daß die Belastungen auf die Ausbreitung der reinen Farbstoff-Quaddeln keinen Einfluß haben.

Diskussion

Im Rahmen der Besprechung der Ergebnisse der einzelnen Versuchsgruppen wurden bereits die Schlußfolgerungen und Überlegungen, die sich aus den Befunden ergaben, weitgehend diskutiert. Zusammenfassend ist zu sagen, daß erwiesen wurde, daß eine Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin erst nach Abklingen der Adrenalinwirkung in deren Gegenregulation erfolgt, und zwar auch dann, wenn Adrenalin über längere Zeit gegeben wird. Dabei ist nicht der Rückgang des Adrenalinpiegels auf das Ausgangsniveau erforderlich. Auch ein Abfall eines vorübergehend über ein bereits überhöhtes Niveau gesteigerten Adrenalinpiegels ist von einer Hyaluronidasehemmung gefolgt. Eine solche Katecholaminspitze, die das durch eine Adrenalin-Dauerinjektion bereits erhöhte Normalniveau überragt, scheint auf irgendeine Weise während der Adrenalin-Dauerinfusion bei nicht adrenaletomierten Tieren durch eine zusätzliche Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark zustandezukommen. Die Vermutung, daß die Adrenalininjektion auf dem Wege über die Hypophyse durch Vermittlung des ACTH eine Nebennierenrindenhormon-Ausschüttung zustandebringt, die ihrerseits eine zusätzliche Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark bewirkt, hat sich nicht bestätigen lassen. Wohl konnte in den hier vorgelegten Untersuchungen nachgewiesen werden, daß z.B. Prednisolon als Vertreter der Nebennierenrindenhormon-Derivate eine Katecholaminausschüttung aus der Nebenniere bedingt und daß die Hyaluronidasehemmung durch Prednisolon bei adrenaletomierten Tieren ausbleibt, womit die Nebennierenrindenhormone den gleichen Gesetzen wie andere geprüfte hyaluronidasehemmende Substanzen folgen. Auf der anderen Seite jedoch blieb die vorzeitige Hyaluronidasehemmung während der Adrenalin-Dauerinjektion bei hypophysektomierten Tieren nicht aus, was der Fall hätte sein müssen, wenn eine Nebennierenrindenhormon-Wirkung durch Adrenalin via Hypophyse-ACTH zustandekommt. Beiläufig erfahren durch diesen Befund die Versuchsergebnisse verschiedener Autoren ^{32,33} eine Stütze, nach denen Adrenalin keine Nebennierenrindenhormon-Ausschüttung

bedingt, es sei denn wir wollten eine direkte Wirkung Adrenalin → Nebennierenrindenhormon-Ausschüttung ohne Vermittlung der Hypophyse annehmen, eine Ansicht, die von O k i n a k a ⁴³ postuliert wird. Im Rahmen unserer Versuchsanordnung gab es keine Möglichkeit, diese Frage zu klären. Wenn wir dieses Verhalten nicht annehmen wollen, so verbleibt die Möglichkeit einer zusätzlichen Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark direkt durch die Adrenalininjektion. Aus einer anderen Fragestellung heraus hat M a l o r n i ⁴⁶ diese Annahme bereits diskutiert. Er sah, daß bei i.v. Adrenalininfusion an der Katze eine Rhythmik im Ablauf des Blutdruckverhaltens auftritt, die er auf in die Blutbahn gelangende "Adrenalinstitute" trotz kontinuierlich erfolgreicher Adrenalininfusion zurückführte. Auch F o r s t ⁴⁷ vertritt die Ansicht einer Adrenalinausschüttung aus dem Nebennierenmark durch Adrenalingaben. Im Gegensatz dazu stehen die Ansichten von B o r b e r g , E l l i o t und K u r i y a m a ⁴⁸ , T o u r n a d e und C h a b r i o l ⁴⁹ , S u g a w a r a und Mitarb. ⁵⁰ , B r a u c h , B r o w n und R e i n ⁵¹. Es wird von anderer Seite im Rahmen der Forschungen der Klinik untersucht werden, in wie weit durch Adrenalin-Injektionen eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark erfolgt.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H.: Med. Klin. 52 (1957), 1676 (dort weitere Literatur)
- 2) Mathies, H.: Arzneim. Forsch. 8 (1958), 233
- 3) Mathies, H. u. Jankowski, A.: Klin. Wschr. 35 (1957), 892
- 4) Mathies, H.: Med. Mschr. 11 (1957), 791
- 5) Mathies, H.: in Vorbereitung
- 6) Mathies, H. u. Werther, G.v.: in Vorbereitung
- 7) Mathies, H.: in Vorbereitung
- 8) Mathies, H. u. Werther, G.v.: Zschr. f. angew. Bäder- u. Klimaheilk. 5 (1958), 503
- 9) Mathies, H. u. Werther, G.v.: Zschr. f. angew. Bäder- u. Klimaheilk. 5 (1958), Heft 6 im Druck
- 10) Mathies, H.: Zschr. f. Rheumaforsch. 17 (1958), 375
- 11) Mathies, H.: Internat. Kongr. f. univers. Moorforsch. Spa /Belgien 7.6.1958
- 12) Jankowski, A.: Diss. München 1957
- 13) Kuepach, M.v.: Diss. München 1957
- 14) Hartmann, M.: Diss. München in Vorbereitung
- 15) Biechele, I.: Diss. München in Vorbereitung
- 16) Werther, G.v.: Diss. München 1958
- 17) Gerson, M.: Diss. München in Vorbereitung
- 18) Rösch, U.: Diss. München in Vorbereitung
- 19) Kaiser, I.: Diss. München 1958
- 20) Mathies, H.: Klin. Wschr. eingereicht
- 21) Scheufele, R.: Diss. München 1958
- 22) Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz, R. (30)
- 23) Mathies, H.: in Vorbereitung
- 24) Marquardt, P., Meyer, H.-J. u. Schumacher, H.: Arzneim. Forsch. 7 (1957), 457
- 25) Mathies, H.: Vortrag auf dem Deutschen Internistenkongreß Wiesbaden 17.4.1958
- 26) Mathies, H.: Ärztl. Forsch. 12 (1958), I/87
- 27) Jankowski, A.: Diss. München 1957
- 28) Mathies, H.: Zschr. f. ges. exper. Med. eingereicht
- 29) Wiesmüller, J.: Diss. München 1958
- 30) Domenjoz, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 225 (1955), 14
- 31) Selye, H.: Textbook of Endocrinology, Montreal
- 32) Hunter, I.D., Bayliss, R. u. Steinbeck, W.: Lancet (1955/I), 6870
- 33) Thorn, G.W.: Amer. Journ. of Med. 14 (1953), 139

- 34) Vogt, M.: Journ. Physiol. 103 (1944), 317 u. Journ. Physiol. 113 (1951), 129
- 35) Gershberg, Fry, Brobeck u. Long: Yale J. Biol. Med. 23 (1950), 32
- 36) Long: Bull. New York Acad. Med. 23 (1947), 260
- 37) Long u. Fry: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 59 (1945), 67
- 38) Godowski: Brit. med. J. (1948), 46
- 39) Recent, Frosham u. Thorn: J. clin. Endocrinol. 8 (1948), 589
- 40) Hechter: Federation Progress 8 (1949), 70
- 41) Fortier: J. clin. Endocrinol. 11 (1951), 751
- 42) McDermott, Fry, Brobeck u. Long: Yale J. Biol. Med. 23 (1950), 52
- 43) Okinaka u. Mitarb.: zit. Hortling, H. u. Björkesten, G.: Acta endocrinol. 22 (1956), 166
- 44) Duncan, D.B.: Biometrics 11 (1955), 1
- 45) Weber, E.: Grundriß der biologischen Statistik, Jena 1957, 225
- 46) Malorni, G.: Dtsch. med. Journ. 4 (1955), 1
- 47) Forst, A.W.: persönliche Mitteilung
- 48) Borberg, Elliot u. Kuriyama: J. of biol. Chem. 54 (1918), 299
- 49) Tournade, A. u. Chabriol. M.: Soc. Biol. 94 (1926), 535
- 50) Sugawara, T., Saito, S. u. Nemoto, M.: Tohoku J. exper. Med. 2 (1927), 149
- 51) Brauch, F., Brown, W.H. u. Rein, H.: Zschr. f. Biol. 96 (1935), 42

Ich danke Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas, Herrn Dr. H. Mathies für die Anregungen und Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit sowie Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich für die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse. Die Firma E. Merck A.G. stellte mir freundlicherweise einen Teil der in Form von Solu-Decortin-H benutzten Prednisolon-Mengen zur Verfügung.

Lebenslauf

Als erstes von vier Kindern des Sparkasseninspektors Andreas Schlierf und seiner Ehefrau Maria, geborene Guntner, wurde ich am 29. Oktober 1934 in Türkheim (Bayern) geboren.

Nach dem Besuch von vier Klassen Volksschule in Kaufbeuren trat ich im Sommer 1946 in das Humanistische Gymnasium der Benediktiner zu Ottobeuren ein. Da diese Schule nur vierklassig geführt wurde, besuchte ich ab 1950 das Gymnasium in Kaufbeuren, wo ich 1953 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1953/54 begann ich das medizinische Studium an der Ludwig-Maximilian-Universität in München und bestand dort im Frühjahr 1956 die Ärztliche Vorprüfung. Meine klinischen Semester belegte ich ebenfalls in München und werde im März 1959 mit meinem Staatsexamen beginnen.

